



氮稳定同位素技术在陆地生态系统氮循环研究中的应用

方运霆^{1,2,3*} 刘冬伟^{1,2,3} 朱飞飞^{1,2,3} 图影^{1,3,4} 李善龙^{1,2} 黄韶楠^{1,3,4} 全智^{1,2,3}
王盎^{1,2,3}

¹中国科学院沈阳应用生态研究所森林生态与管理重点实验室, 沈阳 110016; ²中国科学院清原森林生态系统观测研究站, 沈阳 110016; ³辽宁省稳定同位素实验室, 沈阳 110016; ⁴中国科学院大学, 北京 100049

摘要 在过去几十年中, 氮(N)稳定同位素技术的发展提高了人们对于陆地生态系统氮循环的认识。该文回顾了氮稳定同位素技术在研究生态系统氮循环中的历史, 综述了最近十多年来氮稳定同位素技术在陆地生态系统氮循环研究中的典型案例, 包括利用氮同位素自然丰度鉴定植物氮来源、指示生态系统氮状态和量化过程速率, 利用¹⁵N标记技术示踪氮的去向和再分布等。该文同时指出这些应用中存在的问题, 以及在陆地生态系统上氮稳定同位素技术今后研究的重点发展方向。

关键词 氮稳定同位素技术; 自然丰度技术; ¹⁵N标记技术

方运霆, 刘冬伟, 朱飞飞, 图影, 李善龙, 黄韶楠, 全智, 王盎 (2020). 氮稳定同位素技术在陆地生态系统氮循环研究中的应用. 植物生态学报, 44, 373–383. DOI: 10.17521/cjpe.2019.0249

Applications of nitrogen stable isotope techniques in the study of nitrogen cycling in terrestrial ecosystems

FANG Yun-Ting^{1,2,3*}, LIU Dong-Wei^{1,2,3}, ZHU Fei-Fei^{1,2,3}, TU Ying^{1,3,4}, LI Shan-Long^{1,2}, HUANG Shao-Nan^{1,3,4}, QUAN Zhi^{1,2,3}, and WANG Ang^{1,2,3}

¹Key Laboratory of Forest Ecology and Management, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016; ²Qingyuan Forest CERN, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016 China; ³Key Laboratory of Stable Isotope Techniques and Applications, Liaoning Province, Shenyang, 110016; and ⁴University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract

In the past several decades, the development of nitrogen (N) stable isotope techniques has improved the understanding of N cycling in terrestrial ecosystems. This review briefly introduced the history of N stable isotope techniques in studying N cycling in terrestrial ecosystems and summarized typical studies focusing on different aspects of ecosystem N cycling in recent years, including using 1) ¹⁵N natural abundance to identify plant N sources, indicate N status of ecosystems, and quantify N transformation rates; 2) ¹⁵N enriched tracers to study N fates, redistribution and gaseous loss from ecosystems. In the end, this review points out challenges and future applications of N stable isotope techniques on studying N cycling in terrestrial ecosystems.

Key words nitrogen stable isotope technique; natural abundance technique; ¹⁵N labelling technique

Fang YT, Liu DW, Zhu FF, Tu Y, Li SL, Huang SN, Quan Z, Wang A (2020). Applications of nitrogen stable isotope techniques in the study of nitrogen cycling in terrestrial ecosystems. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 44, 373–383. DOI: 10.17521/cjpe.2019.0249

氮(N)通常是陆地生态系统生产力的限制性元素(LeBauer & Treseder, 2008)。然而, 自工业革命以来, 伴随着人类活动(例如燃料燃烧和氮肥使用等)的增加, 人类向大气和环境释放的活性氮也大量增加(Ackerman *et al.*, 2019)。活性氮的增加一方面缓

解了陆地生态系统的氮限制, 但另一方面却造成了一些区域或者局部地区严重的土壤、水和空气污染等环境问题(Galloway *et al.*, 2004)。因此, 认识和了解氮污染对生态系统氮循环的影响方向、程度和未来趋势, 并制定有效的氮管理措施对于全球氮污染

收稿日期Received: 2019-09-25 接受日期Accepted: 2020-01-16

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFA0600802)、国家自然科学基金(41773094)、中国科学院前沿科学重点研究项目(QYZDB-SSW-DQC002)和中国科学院卢嘉锡国际团队项目(GJTD-2018-07)。Supported by the National Key R&D Program of China (2016YFA0600802), the National Natural Science Foundation of China (41773094), the Key Research Program of Frontier Sciences of Chinese Academy of Sciences (QYZDB-SSW-DQC002), and K.C.Wong Education Foundation (GJTD-2018-07).

* E-mail: fangyt@iae.ac.cn

控制十分必要。稳定同位素技术具有示踪、指示和整合等多项功能(Robinson, 2001), 测定生态系统各组分的氮同位素丰度和氮同位素示踪可以为量化氮转化过程速率、氮的来源和去向及其发生机制提供解释, 从而能够加深我们对于生态系统尺度上氮循环的认识和提升氮管理能力。氮稳定同位素技术的更新在生态系统氮循环研究中发挥革命性作用, 例如: 1)对生态系统氮状态的指示指标从利用土壤和植物叶片氮稳定同位素比值($\delta^{15}\text{N}$)发展到无机氮 $\delta^{15}\text{N}$ (Liu *et al.*, 2017a); 2)利用自然丰度技术量化生态系统过程速率, 10年内完成了从无到有的突破(Fang *et al.*, 2015); 3)解决不确定性最大的同位素分馏作用问题, 其中反硝化作用分馏系数的研究对评估生态系统反硝化作用速率具有推动作用(Wang *et al.*, 2018)。

然而, 虽然近十多年来已有大量个例研究报告, 但关于稳定同位素技术和相关知识的综合系统性参考书籍仍然屈指可数。2006年, 美国生态学家Brain Fry出版了全球第一本稳定同位素生态学著作《Stable Isotope Ecology》。该书详细介绍了稳定同位素在生物圈的转化循环规律以及在解决生态学研究中的的一些关键问题等方面的潜力, 在国际上产生了很大的影响。2007年, 美国科学家Robert Michener和Kate Lajtha出版了《Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science》一书, 在氮同位素的章节中重点介绍了利用硝酸盐氮氧同位素鉴别和量化不同来源的硝酸盐的贡献。2010年, 日本生态学家Keisuke Koba等在《Earth, Life and Isotopes》一书中设立章节“Nitrogen isotopic analysis of dissolved inorganic and organic nitrogen in soil extracts”, 系统介绍了可溶性有机氮和无机氮同位素的测定方法。此后, 陆续有一些著作中的单独章节介绍氮同位素技术。而相较于国外, 我国稳定同位素技术在生态学研究中的应用起步较晚。2013年生态学家林光辉教授出版的《稳定同位素生态学》是我国有关稳定同位素生态学的第一本专著。这本专著系统地深入地介绍了稳定同位素技术的历史、相关技术的测定方法以及在生态学和领域中的应用, 对国内稳定同位素技术在生态学和环境科学的研究应用具有很好的入门引导和实际研究指导作用。2017年, 林光辉教授组织翻译了《Isoscapes: Understanding Movement, Pattern, and Process on Earth through Isotope

Mapping》, 即《同位素景观图谱——通过同位素制图认知地球物质移动、格局及其过程》。该书包含了空间可表征同位素数据的收集和利用、同位素景观制图的理论和方法、同位素景观图谱的多学科应用等三大部分, 涉及内容十分丰富, 从区域和全球尺度上的同位素数据收集、监测新方法和数据整合分析, 到区域和全球尺度上碳、氮、氢和氧同位素景观图谱的构建, 再到如何利用同位素景观图谱开展动物在陆地-海洋环境间的迁移、污染物的标记追踪、考古与古生态重建, 以及法医调查取证等不同领域。为此, 本文将重点介绍最近十多年来 ^{15}N 自然丰度技术和 ^{15}N 标记技术在生态学相关领域的应用及重要进展, 同时指出这些应用方面存在的问题, 以及在陆地生态系统上氮稳定同位素技术研究今后的重点发展方向。

1 原理、技术和方法

1.1 ^{15}N 自然丰度技术

^{15}N 自然丰度技术法主要利用氮周转过程中的同位素分馏作用。氮同位素分馏作用指的是参与生物化学反应的底物和产物 $\delta^{15}\text{N}$ 不同的现象。分馏作用之所以发生, 是因为相较于 ^{14}N , ^{15}N 参与生物化学反应打破或者形成新的化学键需要更多的能量, 所以反应过程中更多的 ^{14}N 参与反应, 从而导致底物的 ^{15}N 发生相对富集, $\delta^{15}\text{N}$ 升高(Robinson, 2001)。植物在吸收、利用和同化氮过程中, 在土壤氮周转过程中均会发生同位素分馏作用(图1)。 ^{15}N 自然丰度技术法的优势在于它适用于大面积区域的调查对比研究, 不受取样时间和空间的限制, 同时样品测定简单(Robinson, 2001; 姚凡云等, 2012)。

1.2 ^{15}N 标记技术

^{15}N 标记技术是将一定数量的 ^{15}N 富集的含氮化合物添加到系统中(植物、土壤或整个生态系统), 经过一段时间后分析其去向(Templer *et al.*, 2012)。在生态系统氮循环研究方面, ^{15}N 标记技术不受稳定同位素分馏效应的影响, 具有 ^{15}N 自然丰度法和传统示踪法所不具备的优点。但 ^{15}N 标记技术的最大不足之处是标记药品及样品分析费用较高, 因而限制其广泛应用。此外, 实验中还应考虑标记样品的均匀性、标记期长短和条件、示踪期长短和各库转化, 同时注意追踪的各个库要全面等问题。近年来, 随着稳定同位素技术的不断革新, 氮同位素标记物和仪

器检测成本的下降, ^{15}N 标记技术已应用于陆地生态系统尺度上的各个方面,如分析氮的来源、分配和去向、土壤氮的转化以及氮损失等研究(He *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2019)。下文以陆地生态系统中森林生态系统(自然生态系统)和农田生态系统(人工生态系统)为例,介绍近年来 ^{15}N 标记技术在生态系统尺度上的应用。

1.3 氮同位素分析技术

氮稳定同位素技术在研究生态系统氮循环中有比较长的应用历史,早在20世纪50年代, Hoering就发表了首篇关于自然物质 ^{15}N 自然丰度的论文(Hoering, 1955)。根据分馏方法和分析的气体类型不同,同位素测定方法的发展大致经历了三个时期。20世纪50年代至80年代,科学家主要利用碱性次溴酸盐(Rittenberg)氧化法将离子转化成 N_2 , 20世纪80年代至20世纪末期,科学家利用杜马斯(Dumas)燃烧法把固体样品转化成 N_2 ,实现氮稳定同位素在线测定(Burke *et al.*, 1990),该方法也沿用至今。自21世纪开始,科学家进一步发展了测定可溶性有机和无机氮同位素的快速分析技术,成功通过化学或者生物的方法将溶液中的含氮物质直接转化成 N_2O ,再利用商业化的气体吹扫捕集系统连接稳定同位素质谱仪进行在线同位素测定(Sigman *et al.*, 2001; McIlvin & Altabet, 2005; Zhang *et al.*, 2007a; Koba *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2017a)。新技术对样品的需求是传统方法的1/100甚至1/1 000,因此适合样品量少和氮含量低的样品,也使得氮循环的研究从海洋和陆地生态系统扩展到大气和冰芯的研究中(Hastings, 2010; Huang *et al.*, 2019)。

2 ^{15}N 自然丰度技术应用进展

2.1 $\delta^{15}\text{N}$ 指示植物氮来源

随着土壤有效态氮(NH_4^+ 和 NO_3^-) ^{15}N 分析方法的稳步和快速发展,植物和土壤 ^{15}N 自然丰度法也越来越多地被用于反映和推测植物氮利用特点和偏好(Houlton *et al.*, 2007)。该方法通过分析植物各部位 ^{15}N 自然丰度,结合土壤 NH_4^+ 和 NO_3^- 及有机氮的 ^{15}N 自然丰度值,根据同位素混合模型和同位素分馏作用,进而确定不同物种氮吸收偏好及不同土壤氮形态对植物氮利用的贡献(Takebayashi *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2018)。Houlton等(2007)采用该方法研究了位于夏威夷毛依岛(Maui)的降水梯度上(2 200–5 050 mm;

6个站点)热带山地雨林(优势植物种均为*Metrosideros polymorpha*)的植物氮吸收特点,发现降水量3 350 mm是植物利用氮形态变化的转折点,即在降水量少于3 350 mm的站点, NO_3^- 是植物吸收利用的主要形式,而在降水量大于3 350 mm的站点, NH_4^+ 是植物利用氮的主要形式。Zhang等(2018)通过分析来自中国青藏高原东部不同林龄的云杉(*Picea asperata*)种植林植物叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 和土壤 NH_4^+ 和 NO_3^- 及有机氮的 ^{15}N 自然丰度值,根据同位素二元和三元混合模型计算发现,在林龄20和30年的种植林内,植物优先利用 NO_3^- ,在林龄大于30年的40、50、70年的云杉种植林内植物则更偏向利用 NH_4^+ (Zhang *et al.*, 2018),而土壤有机氮也是植物氮利用的重要组成部分,占23%–44%。以上来自不同类型生态系统(热带山地林和高山云杉林)的研究结果充分表明植物氮利用策略上具有可塑性,即利用土壤中最主要的氮形式,这代表了植物具备一定的适应性以对抗环境选择压力。

利用 ^{15}N 自然丰度法研究植物氮源偏好,解决了传统的水培法(仅通过观察生物量差异)、 ^{15}N 标记法(相对昂贵,难以大范围应用)等方法研究和对比植物氮吸收的局限性,可以反映植物和土壤微生物氮竞争的条件下植物氮利用策略。但该方法也存在缺点,即在应用过程中,植物氮吸收、植物内部氮转移及菌根吸收转移氮给植物等过程导致的氮分馏系数均会影响 ^{15}N 自然丰度(Mayor *et al.*, 2012),而这些分馏系数较难测定,往往根据研究经验并结合文献进行假定,给该方法的应用带来一定的不确定性。

2.2 植物叶片、树木年轮指示生态系统氮状态的历史变化

氮的有效性是一个相对性的概念,是指相对于植物和微生物氮需求的土壤氮供给(McLauchlan *et al.*, 2010)。 $\delta^{15}\text{N}$ 的变化能够反应不同生态系统氮的有效性的差异和历史变化。当土壤氮供给大于生物需求时,氮会通过淋溶或是气态氮损失的比例更大,这个过程会导致更多 ^{14}N 通过淋溶或是气态氮释放而损失,而更多的 ^{15}N 留在植物组织或土壤里,造成植物和土壤呈现较高的 $\delta^{15}\text{N}$ 。因此,生态系统氮有效性越高, $\delta^{15}\text{N}$ 越高。Craine等(2009)整合了全球11 000多个植物样品的叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 、氮含量等数据,发现在氮有效性较高的热带森林生态系统,叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 较高,而温带森林叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 较低(Craine *et al.*, 2009)。

Craine等(2015)整合全球6 000多个土壤样品数据,指出热带生态系统土壤有比较高的 $\delta^{15}\text{N}$ 。另外, Craine等(2018)进一步整合了全球近37年来43 000多个植物叶片样品的 $\delta^{15}\text{N}$ 和氮含量数据,发现近30年叶片 $\delta^{15}\text{N}$ 和氮含量均出现下降趋势,指出陆地生态系统生产力可能越来越受氮限制。

树木年轮可以记录同一植物氮状态的历史变化。McLauchlan等(2007)利用树木年轮 $\delta^{15}\text{N}$ 历史格局指出美国北方森林(美国镜湖流域)氮的有效性在近75年呈现下降趋势,这个结果也得到湖泊沉积物结果的支持。随后,McLauchlan等(2017)根据39个站点的森林树木年轮的结果进一步显示美国温带森林氮的有效性甚至在近150多年都是在逐渐下降的。该研究还指出氮沉降并不是这一变化的主导因素,大气 CO_2 浓度的增加(“ CO_2 的肥效作用”)可能才是导致温带森林氮有效性下降的主要原因。然而,热带森林却呈现不同的结果, Hietz等(2011)利用植物叶片和树木年轮的 $\delta^{15}\text{N}$ 的数据指出在近50–70年热带森林氮的有效性是增加的,并指出氮沉降可能是氮有效性增加的主要原因。

2.3 土壤无机氮同位素特征指示生态系统氮状态

土壤无机氮(铵态氮和硝态氮)的同位素组成不仅反映它们参与氮转化过程中的分馏作用,而且反映了他们主要来源的同位素特征(分别是土壤有机质和铵态氮)。因此,通过比较土壤有机质、铵态氮和硝态氮的 ^{15}N 丰度的大小可以推断土壤氮循环状态。例如,硝化作用会导致铵态氮 ^{15}N 丰度上升,如果铵态氮 ^{15}N 高于有机质 ^{15}N ,说明土壤中发生的硝化作用可能很强烈。同理,反硝化作用会导致硝酸盐 ^{15}N 丰度上升,如果硝态氮的 ^{15}N 高于铵态氮的 ^{15}N ,说明土壤中发生了反硝化作用,同时结合硝酸盐 ^{15}N 和 ^{18}O 的相关关系能更好判断反硝化作用的发生。目前,利用无机氮同位素丰度反映土壤氮循环过程的研究仍然十分有限,这主要受制于无机氮同位素的测定方法。例如,样品用量大,测定步骤繁琐,方法不易操作等(刘冬伟等, 2017)。借助于最新的无机氮同位素分析方法,我国研究人员利用土壤无机氮同位素在指示草地生态系统氮状态和反映氮循环过程上有了重要发现。例如,通过比较土壤有机质、铵态氮和硝态氮的 $\delta^{15}\text{N}$ 的大小,再结合硝态氮浓度变化、硝酸盐氧同位素特征、植被分布格局和微生物功能基因丰度数据,发现当降水量小于100 mm

时,生态系统氮循环主要受非生物因素控制,当降水量大于100 mm时,生态系统氮循环主要受生物因素调控(Liu *et al.*, 2017a)。此外,通过对植物和土壤总氮、土壤铵态氮和硝态氮的 $\delta^{15}\text{N}$ 的分析,发现长期降水增加情形下反硝化作用发生很可能加剧了氮供给对植物生长的限制(Ren *et al.*, 2017)

2.4 土壤微生物氮同位素特征指示生态系统氮状态

土壤微生物直接参与生态系统的有机质分解、土壤呼吸、氮矿化以及氮损失等重要过程,其活性受土壤有机碳和氮的可利用状态控制(Dijkstra *et al.*, 2006)。土壤微生物 ^{15}N 也可以指示生态系统土壤碳和氮可利用状态。当土壤中碳有效性降低,微生物为获取更多的碳和能量,对氮的利用从以同化为主转向有机氮净矿化,排出更多 ^{15}N 贫化的氮,导致微生物本身 ^{15}N 逐渐富集。2005年以前,对于土壤微生物 ^{15}N 自然丰度的变化规律,尤其是在不同碳和氮可利用状态下的变化规律研究得极少。Dijkstra等(2006)通过一系列研究发现,在不同土壤、气候、植被和土地利用方式下,土壤微生物量氮相对于土壤总氮和可溶性氮,其 ^{15}N 自然丰度总是不同程度地更高。微生物氮相对土壤总氮和可溶性氮的 ^{15}N 富集度可以综合指示生态系统土壤碳和氮可利用状态。进一步研究发现,微生物相对可溶性氮的 ^{15}N 富集度与土壤中可溶性有机质的C:N负相关,与土壤氮净矿化速率正相关。Coyle等(2009)通过对跨度几百万年的半干旱草地土壤研究认为,微生物 ^{15}N 富集度能够反映生态系统在长期发育过程中碳和氮的有效性及其转化过程。

2.5 氮稳定同位素自然丰度量化生态系统尺度反硝化作用速率

目前氮循环研究中不确定性最大的过程是生态系统气态氮损失(Niu *et al.*, 2016)。反硝化作用是造成气态氮损失的最主要途径。以往量化反硝化速率的方法有乙炔抑制法和 ^{15}N 标记法,但由于空间异质性无法应用到生态系统尺度(Groffman *et al.*, 2006)。Houlton等(2006)建立的概念模型认为土壤总氮的 ^{15}N 受到氮沉降、氮淋失和气态氮损失的影响,通过同位素混合模型可以量化生态系统尺度反硝化作用速率(Houlton *et al.*, 2006; Houlton & Bai, 2009)。但是,由于土壤总氮库是长期积累的结果,极其稳定,因此土壤总氮的 ^{15}N 自然丰度法反映的是生态系统尺度反硝化作用在长时间上的平均水平

(Houlton *et al.*, 2006; Houlton & Bai, 2009; Bai *et al.*, 2012)。随后, Fang等(2015)提出利用硝酸盐氮同位素自然丰度技术($\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{18}\text{O}$ 和 $\Delta^{17}\text{O}$), 结合传统的氮沉降和氮流失的监测, 再根据质量平衡和同位素质量平衡原理来量化生态系统尺度硝化和反硝化作用速率, 该方法的优势在于可以同时量化不同时间段的硝化和反硝化速率。

3 ^{15}N 标记技术应用进展

3.1 森林生态系统

通过森林生态系统尺度上 ^{15}N 标记试验来研究氮沉降在生态系统的滞留、去向及分配, 可以更准确地评估沉降氮对森林的各种生态环境效应(Templer *et al.*, 2012)。目前, 已有的 ^{15}N 标记研究多集中于短时间尺度研究(短于18个月), 且以温带森林研究为主。Tietema等(1998)综合欧洲多个针叶林的 ^{15}N 标记研究结果, 发现土壤是沉降氮的最主要去向, 其中有机质层土壤的滞留率随氮沉降增加而降低, 氮淋失量则随之增加。Nadelhoffer等(1999)通过在低氮沉降下Harvard森林进行的 ^{15}N 标记实验, 以及综合同时期欧洲的 ^{15}N 标记实验结果, 认为沉降氮进入森林后1年左右, 对于乔木木质部生物量增加以及固碳的作用有限。Gurmesa等(2016)在高氮沉降的鼎湖山的研究表明, 虽然该森林氮淋失量较高, 但当季沉降氮的贡献比例较小。

近些年来, 通过配对 ^{15}N 标记($^{15}\text{NH}_4^+$ 和 $^{15}\text{NO}_3^-$), 越来越多的研究发现, 不仅植物和土壤对于两种沉降氮的吸收和滞留率差异明显, 而且不同类型乔木植物对两种形态氮的吸收利用效率也明显不同(Liu *et al.*, 2017b; Goodale, 2017; Wang *et al.*, 2018)。在温带森林, 地表凋落物层对 $^{15}\text{NH}_4^+$ 的吸收固持率更高, 而对 $^{15}\text{NO}_3^-$ 吸收固持率明显更低, 导致其在表层矿物质土壤滞留率更高(Feng *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2017b)。而在凋落物层较薄的亚热带和热带森林, 无论是地表凋落物层还是矿物质层土壤, 都更偏向吸收固持 $^{15}\text{NH}_4^+$ (Liu *et al.*, 2017c; Wang *et al.*, 2018)。目前, 在同一森林的铵态氮和硝态氮配对的实验较少, 但几乎所有的配对标记结果都显示, 地上植物对 $^{15}\text{NO}_3^-$ 的总吸收固持率明显比 $^{15}\text{NH}_4^+$ 更高。其主要原因被认为是沉降氮进入森林生态系统后, $^{15}\text{NH}_4^+$ 更易于被土壤中的微生物固持, 以及发生无机过程的吸附或置换, 更难以到达植物根系被根系

吸收。Liu等(2017b)在吉林长白山的研究发现, 与针叶树种相比, 阔叶树种对 $^{15}\text{NO}_3^-$ 的吸收利用速率更快。Goodale (2017)在美国纽约州Arnot森林的研究发现, 侵染丛枝菌根真菌(AM)的树种比侵染内生菌根真菌(ECM)的树种更偏向利用 NO_3^- 。Li等(2019)在辽宁清原次生林的研究也表明, AM树种对标记的 $^{15}\text{NO}_3^-$ 的吸收利用速率明显快于ECM树种。其中, 蒙古栎(*Quercus mongolica*)作为阔叶的ECM树种, 也符合这一规律。另外, 通过 ^{15}N 标记后不同时间序列的研究结果表明, 沉降氮进入森林生态系统后, 其损失主要发生在第一个生长季内。在标记后的1–7年的时间内, 地表凋落物层和表层矿物质土壤中固持的沉降氮, 逐渐向更深层土壤和植物层迁移, 而通过气体释放或淋溶过程损失的比例很小, 能够较长时间地滞留在整个生态系统内(Nadelhoffer *et al.*, 2004; Goodale, 2017; Liu *et al.*, 2017b; Wang *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019)。

3.2 农田生态系统

^{15}N 示踪技术在农田生态系统的应用开始于20世纪50年代, 最早是用来研究作物对氮的吸收与生理代谢。80年代后, 随着稳定同位素技术的不断革新, 以及同位素标记物和仪器检测成本的下降, ^{15}N 示踪技术已逐渐应用到了农田生态系统尺度上的各个方面。

在实验室培养条件下, 研究者们主要通过 ^{15}N 的生物标志物和同位素模型来研究土壤氮的转化动态。其中, Zhang和Amelung (1996)、Zhang等(2007b)和He等(2006, 2011)将同位素示踪技术和土壤功能组分相结合, 建立了测定土壤氨基糖和氨基酸转化与更新的GC-MS和HPLC-MS方法, 并成功应用该方法区分了不同微生物对土壤有机碳氮转化的贡献。Mary等(1998)、Müller等(2007)通过 NH_4NO_3 - ^{15}N 交叉标记技术, 发展了定量土壤氮转化过程的数值计算模型, 成功模拟出土壤中矿化、固持、再矿化、自养硝化、异养硝化、反硝化、硝酸盐异化还原成铵(DNRA)等多个过程的转化速率。通过 ^{15}N 同位素质量守恒和数值模型, Stevens和Laughlin (1998)、Kool等(2011)、Yang等(2014)、Müller等(2014)则建立了区分土壤释放 N_2O 和 N_2 微生物途径的新方法。此外, 还有研究者将同位素示踪技术与现代分子生物学技术相结合, 来研究更为复杂的微生物氮转化过程, 例如厌氧氨氧化(Zhu *et al.*, 2011; Ding *et al.*,

2014; Nie *et al.*, 2015)。

在原位小区试验条件下, 研究者们主要是通过 ^{15}N 脉冲标记来模拟氮肥施用, 从而追踪土壤中肥料氮的流向和命运。由于农田生态系统结构单一、人为活动影响大, 田间原位 ^{15}N 的去向很不稳定, 变异较大(Gardner & Drinkwater, 2009)。过去和目前的大部分研究主要探讨农艺措施对肥料氮去向的影响, 相关措施包括施用增效肥料(Zhang *et al.*, 2010; Chalk *et al.*, 2015), 优化施氮方式或时间(Wang *et al.*, 2016a; de Oliveira *et al.*, 2018), 优化施肥量(Rimski-Korsakov *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016b), 少免耕(Ruisi *et al.*, 2016), 秸秆还田(Gabriel *et al.*, 2016; Murphy *et al.*, 2016; Quan *et al.*, 2018), 覆膜灌水(Wang *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2015), 轮间作(Xu *et al.*, 2015), 作物品种(Yang *et al.*, 2016), 耕作历史(Liang *et al.*, 2013)等。采用 ^{15}N 示踪法计算出来的作物回收率通常只是肥料氮的当季利用效率, 真实评价氮肥的供氮功能还需要考虑其残留效应。在土壤氮平衡条件下, 残留效应的本质就是当季残留肥料氮对当季土壤氮消耗的补偿, 可以理解为肥料氮的间接供氮效应。该效应被认为是维持土壤长久供氮能力的重要机制(Ju & Christie, 2011; 巨晓棠, 2014)。残留肥料氮的后季利用可通过 ^{15}N 示踪定量, Ladha等(2005)总结了前人多季 ^{15}N 示踪研究的结果, 发现当季残留肥料氮在随后五季作物的累积利用率平均仅在6.5%左右(逐年平均分别为3.3%、1.3%、1.0%、0.4%和0.5%)。但不能由此就认为残留肥料氮的后季利用就很低, 因为绝大多数的 ^{15}N 示踪结果均显示作物吸收的氮主要还是来自土壤氮库, 肥料氮当季的贡献只占37%–44%(Gardner & Drinkwater, 2009; Blesh & Drinkwater, 2014)。为了证明肥料氮的长期效应, Sebilo等(2013)研究了硝态氮肥施入农田土壤后30年的利用和损失情况, 他发现肥料氮的利用和损失是长期的过程, 30年连续作物种植仍有12%–15%的肥料氮残留在土壤中, 第一季肥料氮30年的累积利用率达到61%–65%。

4 应用展望

4.1 氮同位素分馏效应

氮稳定同位素自然丰度法被证明是研究氮循环过程的有效手段(Robinson, 2001)。由于氮循环的物

理、化学和生物过程均伴随氮的同位素分馏, 使生态系统不同含氮化合物的氮同位素组成($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$)呈现动态变化, 因此氮稳定同位素自然丰度被用于指示生态系统中氮的来源和周转过程, 如分析植物生长策略(Houlton *et al.*, 2007)、追踪 NO_x 和 NH_3 的排放源(Pan *et al.*, 2016; Zong *et al.*, 2017)和量化生态系统尺度上的反硝化速率(Fang *et al.*, 2015)。

然而, 利用氮稳定同位素研究氮循环过程, 必须考虑氮循环各个过程的氮同位素分馏效应(图1)。例如, 利用近十年来发展的生态系统氮循环同位素模型和硝酸盐氮氧同位素自然丰度法量化生态系统反硝化速率时, 必须考虑反硝化作用过程中氮同位素分馏效应(Houlton *et al.*, 2006; Houlton & Bai, 2009; Bai *et al.*, 2012; Fang *et al.*, 2015); 利用植物氮同位素研究植物氮吸收策略时, 必须考虑植物氮吸收以及植物内部的氮转移过程中的氮同位素分馏效应(Houlton *et al.*, 2007)。目前国内外对于氮同位素分馏效应缺乏系统性的研究, 使得氮循环过程中的氮同位素分馏效应存在很大的不确定性, 如厌氧氨氧化过程(Brunner *et al.*, 2013)和矿化过程(Möbius, 2013; Zhang *et al.*, 2015)的同位素分馏效应研究较少, DNRA过程中的同位素分馏效应尚无报道, 而反硝化过程的同位素分馏效应则随实验条件和计算方法的不同呈现较大的变异性(Denk *et al.*, 2017)。因此, 在未来对于氮循环的研究中, 应重点考虑各个过程中氮同位素分馏效应的研究, 而进一步将含氮化合物的氮同位素组成、同位素分馏效应与生物地球化学模型相结合, 也会加深我们对氮循环的理解, 并为这些模型的验证提供综合约束(Bai & Houlton, 2009; Houlton *et al.*, 2015; Denk *et al.*, 2017)。

4.2 ^{15}N 标记技术应用

最近十年, 陆地生态系统氮稳定同位素标记技术得到长足的发展, 如利用 ^{15}N 交叉标记技术研究土壤氮转化速率、气态氮损失和氮在生态系统内部的去向及分配等(Müller *et al.*, 2007; Templer *et al.*, 2012; Sebilo *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2014; Xi *et al.*, 2016)。然而, 目前生态系统尺度上的研究样方面积仍然在几十到几百平方米。随着同位素标记产品的多样化和成本降低, 未来的研究可以标记不同的氮形态, 也可发展到集水区尺度的示踪研究, 如集水区或景观尺度上不同形态氮损失的研究。另外, 区

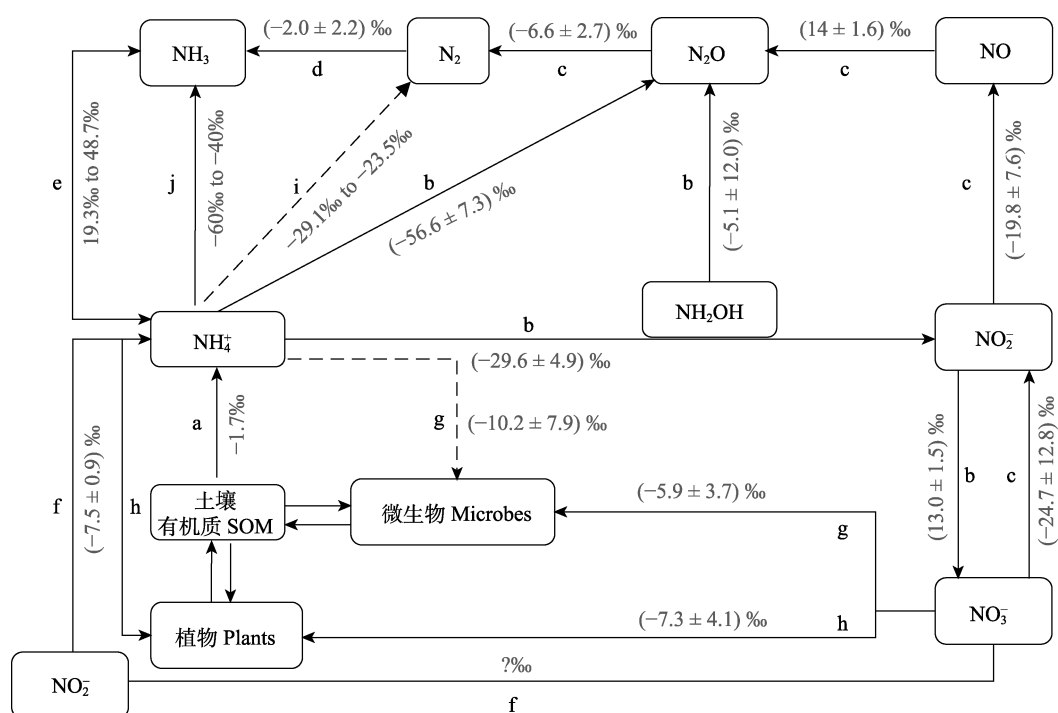


图1 氮循环过程中的同位素分馏效应($^{15}\epsilon$, ‰, 修改自Denk *et al.*, 2017)。英文字母代表生态系统氮循环过程: a, 矿化作用; b, 硝化作用; c, 反硝化作用; d, 生物固氮; e, NH_3 和 NH_4^+ 同位素交换; f, 硝酸盐异化还原成铵作用; g, 微生物固定; h, 植物吸收; i, 厌氧氨氧化作用; j, NH_3 挥发。

Fig. 1 Isotope fractionation effects in nitrogen processes ($^{15}\epsilon$, ‰, modified by Denk *et al.*, 2017). Processes involved in terrestrial ecosystem N cycling are: a, mineralization; b, nitrification; c, denitrification; d, biological N_2 fixation; e, isotope exchange between NH_3 and NH_4^+ ; f, dissimilatory nitrate reduction to ammonium; g, immobilization by microbes; h, plant uptake; i, anaerobic ammonia oxidation; j, NH_3 volatilization. SOM, soil organic matter.

域尺度 ^{15}N 示踪研究也有必要进一步发展, 如方运霆等正在开展的中国森林 ^{15}N 示踪网络研究, 在国家尺度上利用 ^{15}N 标记技术研究不同气候区森林生态系统沉降氮去向和分配。

另外, 目前已有的 ^{15}N 示踪研究主要集中于短期氮去向研究, 缺乏长时间尺度的研究。然而, 已有研究表明在农田生态系统中, 肥料氮的利用和损失是长期的过程(Sebilo *et al.*, 2013); 在森林生态系统中, 沉降氮能较长时间地滞留在生态系统内部且在不同组分中分配比例发生变化(Nadelhoffer *et al.*, 2004; Krause *et al.*, 2012; Goodale, 2017; Li *et al.*, 2019)。因此, 在全球变化背景下, 深入了解长时间尺度下氮在生态系统内部的滞留、损失以及周转对于评估氮的生态环境效应意义深远。

参考文献

- Ackerman D, Millet DB, Chen X (2019). Global estimates of inorganic nitrogen deposition across four decades. *Global Biogeochemical Cycles*, 33, 100–107.
- Bai E, Houlton BZ (2009). Coupled isotopic and process-based

modeling of gaseous nitrogen losses from tropical rain forests. *Global Biogeochemical Cycles*, 23, GB2011. DOI: 10.1029/2008gb003361.

- Bai E, Houlton BZ, Wang YP (2012). Isotopic identification of nitrogen hotspots across natural terrestrial ecosystems. *BiogeoSciences*, 9, 3287–3304.
- Blesh J, Drinkwater LE (2014). Retention of ^{15}N -labeled fertilizer in an Illinois prairie soil with winter rye. *Soil Science Society of America Journal*, 78, 496–508.
- Brunner B, Contreras S, Lehmann MF, Matantseva O, Rollog M, Kalvelage T, Klockgether G, Lavik G, Jetten MSM, Kartal B, Kuypers MMM (2013). Nitrogen isotope effects induced by anammox bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 18994–18999.
- Burke IC, O'Deen LA, Mosier AR, Porter LK (1990). Diffusion of soil extracts for nitrogen and nitrogen-15 analyses by automated combustion/mass spectrometry. *Soil Science Society of America Journal*, 54, 1190–1192.
- Chalk PM, Craswell ET, Polidoro JC, Chen DL (2015). Fate and efficiency of ^{15}N -labelled slow- and controlled-release fertilizers. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 102, 167–178.

- Chen ZM, Wang HY, Liu XW, Lu DJ, Zhou JM (2016). The fates of ^{15}N -labeled fertilizer in a wheat-soil system as influenced by fertilization practice in a loamy soil. *Scientific Reports*, 6, 34754. DOI: 10.1038/srep34754.
- Coyle JS, Dijkstra P, Doucett RR, Schwartz E, Hart SC, Hungate BA (2009). Relationships between C and N availability, substrate age, and natural abundance ^{13}C and ^{15}N signatures of soil microbial biomass in a semiarid climate. *Soil Biology & Biochemistry*, 41, 1605–1611.
- Craine JM, Elmore AJ, Aida MPM, Bustamante M, Dawson TE, Hobbie EA, Kahmen A, Mack MC, McLauchlan KK, Michelsen A, Nardoto GB, Pardo LH, Peñuelas J, Reich PB, Schuur EAG, Stock WD, Templer PH, Virginia RA, Welker JM, Wright IJ (2009). Global patterns of foliar nitrogen isotopes and their relationships with climate, mycorrhizal fungi, foliar nutrient concentrations, and nitrogen availability. *New Phytologist*, 183, 980–992.
- Craine JM, Elmore AJ, Wang LX, Aranibar J, Bauters M, Boeckx P, Crowley BE, Dawes MA, Delzon S, Fajardo A, Fang YT, Fujiyoshi L, Gray A, Guerrieri R, Gundale MJ, Hawke DJ, Hietz P, Jonard M, Kearsley E, Kenzo T, Makarov M, Maraño-Jiménez S, McGlynn TP, McNeil BE, Mosher SG, Nelson DM, Peri PL, Roggy JC, Sanders-Demott R, Song MH, Szpak P, Templer PH, van der Colff D, Werner C, Xu XL, Yang Y, Yu GR, Zmudczyńska-Skarbek K (2018). Isotopic evidence for oligotrophication of terrestrial ecosystems. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 1735–1744.
- Craine JM, Elmore AJ, Wang LX, Augusto L, Baisden WT, Brookshire ENJ, Cramer MD, Hasselquist NJ, Hobbie EA, Kahmen A, Koba K, Kranabetter JM, Mack MC, Marin-Spiotta E, Mayor JR, McLauchlan KK, Michelsen A, Nardoto GB, Oliveira RS, Perakis SS, Peri PL, Quesada CA, Richter A, Schipper LA, Stevenson BA, Turner BL, Viani RAG, Wanek W, Zeller B (2015). Convergence of soil nitrogen isotopes across global climate gradients. *Scientific Reports*, 5, 8280. DOI: 10.1038/srep08280.
- de Oliveira SM, de Almeida REM, Ciampitti IA, Pierozan Junior C, Lago BC, Trivelin PCO, Favarin JL (2018). Understanding N timing in corn yield and fertilizer N recovery: an insight from an isotopic labeled-N determination. *PLOS ONE*, 13, e0192776. DOI: 10.1371/journal.pone.0192776.
- Denk TRA, Mohn J, Decock C, Lewicka-Szczebak D, Harris E, Butterbach-Bahl K, Kiese R, Wolf B (2017). The nitrogen cycle: a review of isotope effects and isotope modeling approaches. *Soil Biology & Biochemistry*, 105, 121–137.
- Dijkstra P, Ishizu A, Doucett R, Hart SC, Schwartz E, Menyailo OV, Hungate BA (2006). ^{13}C and ^{15}N natural abundance of the soil microbial biomass. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 3257–3266.
- Ding LJ, An XL, Li S, Zhang GL, Zhu YG (2014). Nitrogen loss through anaerobic ammonium oxidation coupled to iron reduction from paddy soils in a chronosequence. *Environmental Science & Technology*, 48, 10641–10647.
- Fang YT, Koba K, Makabe A, Takahashi C, Zhu WX, Hayashi T, Hokari AA, Urakawa R, Bai E, Houlton BZ, Xi D, Zhang SS, Matsushita K, Tu Y, Liu DW, Zhu FF, Wang ZY, Zhou GY, Chen DX, Makita T, Toda H, Liu XY, Chen QS, Zhang DQ, Li YD, Yoh M (2015). Microbial denitrification dominates nitrate losses from forest ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112, 1470–1474.
- Feng Z, Brumme R, Xu YJ, Lamersdorf N (2008). Tracing the fate of mineral N compounds under high ambient N deposition in a Norway spruce forest at Solling/Germany. *Forest Ecology and Management*, 255, 2061–2073.
- Fry B (2006). *Stable Isotope Ecology*. Springer, New York.
- Gabriel JL, Alonso-Ayuso M, García-González I, Hontoria C, Quemada M (2016). Nitrogen use efficiency and fertiliser fate in a long-term experiment with winter cover crops. *European Journal of Agronomy*, 79, 14–22.
- Galloway JN, Dentener FJ, Capone DG, Boyer EW, Howarth RW, Seitzinger SP, Asner GP, Cleveland CC, Green PA, Holland EA, Karl DM, Michaels AF, Porter JH, Townsend AR, Vörösmarty CJ (2004). Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*, 70, 153–226.
- Gardner JB, Drinkwater LE (2009). The fate of nitrogen in grain cropping systems: a meta-analysis of ^{15}N field experiments. *Ecological Applications*, 19, 2167–2184.
- Goodale CL (2017). Multiyear fate of a ^{15}N tracer in a mixed deciduous forest: retention, redistribution, and differences by mycorrhizal association. *Global Change Biology*, 23, 867–880.
- Groffman PM, Altabet MA, Böhlke JK, Butterbach-Bahl K, David MB, Firestone MK, Giblin AE, Kana TM, Nielsen LP, Voytek MA (2006). Methods for measuring denitrification: diverse approaches to a difficult problem. *Ecological Applications*, 16, 2091–2122.
- Gurmesa GA, Lu XK, Gundersen P, Mao QG, Zhou KJ, Fang YT, Mo JM (2016). High retention of ^{15}N -labeled nitrogen deposition in a nitrogen saturated old-growth tropical forest. *Global Change Biology*, 22, 3608–3620.
- Hastings MG (2010). Evaluating source, chemistry and climate change based upon the isotopic composition of nitrate in ice cores. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 9, 012002. DOI: 10.1088/1755-1315/9/1/012002.
- He HB, Lü H, Zhang W, Hou SM, Zhang XD (2011). A liquid chromatographic/mass spectrometric method to evaluate ^{13}C and ^{15}N incorporation into soil amino acids. *Journal of Soils and Sediments*, 11, 731–740.
- He HB, Xie HT, Zhang XD (2006). A novel GC/MS technique to assess ^{15}N and ^{13}C incorporation into soil amino sugars. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 1083–1091.

- Hietz P, Turner BL, Wanek W, Richter A, Nock CA, Wright SJ (2011). Long-term change in the nitrogen cycle of tropical forests. *Science*, 334, 664–666.
- Hoering T (1955). Variations of nitrogen-15 abundance in naturally occurring substances. *Science*, 122, 1233–1234.
- Houlton BZ, Bai E (2009). Imprint of denitrifying bacteria on the global terrestrial biosphere. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 21713–21716.
- Houlton BZ, Marklein AR, Bai E (2015). Representation of nitrogen in climate change forecasts. *Nature Climate Change*, 5, 398–401.
- Houlton BZ, Sigman DM, Hedin LO (2006). Isotopic evidence for large gaseous nitrogen losses from tropical rainforests. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 8745–8750.
- Houlton BZ, Sigman DM, Schuur EAG, Hedin LO (2007). A climate-driven switch in plant nitrogen acquisition within tropical forest communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 8902–8906.
- Huang SN, Elliott EM, Felix JD, Pan YP, Liu DW, Li SL, Li ZJ, Zhu FF, Zhang N, Fu PQ, Fang YT (2019). Seasonal pattern of ammonium ^{15}N natural abundance in precipitation at a rural forested site and implications for NH_3 source partitioning. *Environmental Pollutant*, 247, 541–549.
- Ju XT (2014). The concept and meanings of nitrogen fertilizer availability ratio—Discussing misunderstanding of traditional nitrogen use efficiency. *Acta Pedologica Sinica*, 51, 921–933. [巨晓棠 (2014). 氮肥有效性的概念和意义——兼论对传统氮肥利用率的理解误区. 土壤学报, 51, 921–933.]
- Ju XT, Christie P (2011). Calculation of theoretical nitrogen rate for simple nitrogen recommendations in intensive cropping systems: a case study on the North China Plain. *Field Crops Research*, 124, 450–458.
- Koba K, Inagaki K, Sasaki Y, Takebayashi Y, Yoh M (2010). Nitrogen isotopic analysis of dissolved inorganic and organic nitrogen in soil extracts//Ohkouchi N, Tayasu I, Koba K. *Earth, Life and Isotopes*. Kyoto University Press, Kyoto, Japan. 17–36.
- Kool DM, Dolfing J, Wrage N, van Groenigen JW (2011). Nitrifier denitrification as a distinct and significant source of nitrous oxide from soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 43, 174–178.
- Krause K, Providoli I, Currie WS, Bugmann H, Schleppi P (2012). Long-term tracing of whole catchment ^{15}N additions in a mountain spruce forest: measurements and simulations with the TRACE model. *Trees*, 26, 1683–1702.
- Ladha JK, Pathak H, Krupnik TJ, Six J, van Kessel C (2005). Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production: retrospects and prospects. *Advances in Agronomy*, 87, 85–156.
- LeBauer DS, Treseder KK (2008). Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology*, 89, 371–379.
- Li SL, Gurmessa GA, Zhu WX, Gundersen P, Zhang SS, Xi D, Huang SN, Wang A, Zhu FF, Jiang Y, Zhu JJ, Fang YT (2019). Fate of atmospherically deposited NH_4^+ and NO_3^- in two temperate forests in China: temporal pattern and re-distribution. *Ecological Applications*, 29, e01920. DOI: 10.1002/eap.1920.
- Liang B, Zhao W, Yang XY, Zhou JB (2013). Fate of nitrogen-15 as influenced by soil and nutrient management history in a 19-year wheat-maize experiment. *Field Crops Research*, 144, 126–134.
- Lin GH (2013). *Stable Isotope Ecology*. Higher Education Press, Beijing. 71. [林光辉 (2013). 稳定同位素生态学. 高等教育出版社, 北京. 71.]
- Liu DW, Tu Y, Fang YT (2017). Isotope analysis of ammonium and nitrate: a review on measured methods and their application. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 28, 2353–2360. [刘冬伟, 图影, 方运霆 (2017). 铵盐和硝酸盐稳定同位素丰度测定方法及其应用案例. 应用生态学报, 28, 2353–2360.]
- Liu DW, Zhu WX, Wang XB, Pan YP, Wang C, Xi D, Bai E, Wang YS, Han XG, Fang YT (2017a). Abiotic versus biotic controls on soil nitrogen cycling in drylands along a 3200 km transect. *Biogeosciences*, 14, 989–1001.
- Liu J, Peng B, Xia ZW, Sun JF, Gao DC, Dai WW, Jiang P, Bai E (2017b). Different fates of deposited NH_4^+ and NO_3^- in a temperate forest in northeast China: a ^{15}N tracer study. *Global Change Biology*, 23, 2441–2449.
- Liu WJ, Yu LF, Zhang T, Kang RH, Zhu J, Mulder J, Huang YM, Duan L (2017c). *In situ* ^{15}N labeling experiment reveals different long-term responses to ammonium and nitrate inputs in N-saturated subtropical forest. *Journal of Geophysical Research*, 122, 2251–2264.
- Liu XE, Li XG, Guo RY, Kuzyakov Y, Li FM (2015). The effect of plastic mulch on the fate of urea-N in rain-fed maize production in a semiarid environment as assessed by ^{15}N -labeling. *European Journal of Agronomy*, 70, 71–77.
- Liu XY, Koba K, Koyama LA, Hobbie SE, Weiss MS, Inagaki Y, Shaver GR, Giblin AE, Hobara S, Nadelhoffer KJ, Sommerkorn M, Rastetter EB, Kling GW, Laundre JA, Yano Y, Makabe A, Yano M, Liu CQ (2018). Nitrate is an important nitrogen source for Arctic tundra plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115, 3398–3403.
- Mary B, Recous S, Robin D (1998). A model for calculating nitrogen fluxes in soil using ^{15}N tracing. *Soil Biology & Biochemistry*, 30, 1963–1979.
- Mayor JR, Schuur EAG, Mack MC, Hollingsworth TN, Bååth E (2012). Nitrogen isotope patterns in Alaskan black

- spruce reflect organic nitrogen sources and the activity of ectomycorrhizal fungi. *Ecosystems*, 15, 819–831.
- McIlvin MR, Altabet MA (2005). Chemical conversion of nitrate and nitrite to nitrous oxide for nitrogen and oxygen isotopic analysis in freshwater and seawater. *Analytical Chemistry*, 77, 5589–5595.
- McLauchlan KK, Craine JM, Oswald WW, Leavitt PR, Likens GE (2007). Changes in nitrogen cycling during the past century in a northern hardwood forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 7466–7470.
- McLauchlan KK, Ferguson CJ, Wilson IE, Ocheltree TW, Craine JM (2010). Thirteen decades of foliar isotopes indicate declining nitrogen availability in central North American grasslands. *New Phytologist*, 187, 1135–1145.
- McLauchlan KK, Gerhart LM, Battles JJ, Craine JM, Elmore AJ, Higuera PE, Mack MC, McNeil BE, Nelson DM, Pederson N, Perakis SS (2017). Centennial-scale reductions in nitrogen availability in temperate forests of the United States. *Scientific Report*, 7, 7856. DOI: 10.1038/s41598-017-08170-z.
- Michener R, Lajtha AK (2007). *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*. Blackwell Publications, Oxford.
- Möbius J (2013). Isotope fractionation during nitrogen remineralization (ammonification): implications for nitrogen isotope biogeochemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 105, 422–432.
- Müller C, Laughlin RJ, Spott O, Rütting T (2014). Quantification of N₂O emission pathways via a ¹⁵N tracing model. *Soil Biology & Biochemistry*, 72, 44–54.
- Müller C, Rütting T, Kattge J, Laughlin RJ, Stevens RJ (2007). Estimation of parameters in complex ¹⁵N tracing models by Monte Carlo sampling. *Soil Biology & Biochemistry*, 39, 715–726.
- Murphy RP, Montes-Molina JA, Govaerts B, Six J, van Kessel C, Fonte SJ (2016). Crop residue retention enhances soil properties and nitrogen cycling in smallholder maize systems of Chiapas, Mexico. *Applied Soil Ecology*, 103, 110–116.
- Nadelhoffer KJ, Colman BP, Currie WS, Magill A, Aber JD (2004). Decadal-scale fates of ¹⁵N tracers added to oak and pine stands under ambient and elevated N inputs at the Harvard Forest (USA). *Forest Ecology and Management*, 196, 89–107.
- Nadelhoffer KJ, Downs MR, Fry B (1999). Sinks for ¹⁵N-enriched additions to an oak forest and a red pine plantation. *Ecological Applications*, 9, 72–86.
- Nie SA, Li H, Yang XR, Zhang ZJ, Weng BS, Huang FY, Zhu GB, Zhu YG (2015). Nitrogen loss by anaerobic oxidation of ammonium in rice rhizosphere. *The ISME Journal*, 9, 2059–2067.
- Niu SL, Classen AT, Dukes JS, Kardol P, Liu LL, Luo YQ, Rustad L, Sun J, Tang JW, Templer PH, Thomas RQ, Tian DS, Vicca S, Wang YP, Xia JY, Zaehle S (2016). Global patterns and substrate-based mechanisms of the terrestrial nitrogen cycle. *Ecology Letters*, 19, 697–709.
- Pan YP, Tian SL, Liu DW, Fang YT, Zhu XY, Zhang Q, Zheng B, Michalski G, Wang YS (2016). Fossil fuel combustion-related emissions dominate atmospheric ammonia sources during severe haze episodes: evidence from ¹⁵N-stable isotope in size-resolved aerosol ammonium. *Environmental Science & Technology*, 50, 8049–8056.
- Quan Z, Li SL, Zhu FF, Zhang LM, He JZ, Wei WX, Fang YT (2018). Fates of ¹⁵N-labeled fertilizer in a black soil-maize system and the response to straw incorporation in Northeast China. *Journal of Soils and Sediments*, 18, 1441–1452.
- Ren HY, Xu ZW, Isbell F, Huang JH, Han XG, Wan SQ, Chen SP, Wang RZ, Zeng DH, Jiang Y, Fang YT (2017). Exacerbated nitrogen limitation ends transient stimulation of grassland productivity by increased precipitation. *Ecological Monographs*, 87, 457–469.
- Rimski-Korsakov H, Rubio G, Lavado RS (2012). Fate of the nitrogen from fertilizers in field-grown maize. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 93, 253–263.
- Robinson D (2001). $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle. *Trends in Ecology & Evolution*, 16, 153–162.
- Ruisi P, Saia S, Badagliacca G, Amato G, Frenda AS, Giambalvo D, di Miceli G (2016). Long-term effects of no tillage treatment on soil N availability, N uptake, and ¹⁵N-fertilizer recovery of durum wheat differ in relation to crop sequence. *Field Crops Research*, 189, 51–58.
- Sebilo M, Mayer B, Nicolardot B, Pinay G, Mariotti A (2013). Long-term fate of nitrate fertilizer in agricultural soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 18185–18189.
- Sigman DM, Casciotti KL, Andreani M, Barford C, Galanter M, Böhlke JK (2001). A bacterial method for the nitrogen isotopic analysis of nitrate in seawater and freshwater. *Analytical Chemistry*, 73, 4145–4153.
- Stevens RJ, Laughlin RJ (1998). Measurement of nitrous oxide and di-nitrogen emissions from agricultural soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 52, 131–139.
- Takebayashi Y, Koba K, Sasaki Y, Fang YT, Yoh M (2010). The natural abundance of ¹⁵N in plant and soil-available N indicates a shift of main plant N resources to NO₃⁻ from NH₄⁺ along the N leaching gradient. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24, 1001–1008.
- Templer PH, Mack MC, Chapin FS, Christenson LM, Compton JE, Crook HD, Currie WS, Curtis CJ, Dail DB, D'antonio CM, Emmett BA, Epstein HE, Goodale CL, Gundersen P, Hobbie SE, Holland K, Hooper DU, Hungate BA, Lamontagne S, Nadelhoffer KJ, Osenberg CW, Perakis SS, Schleppi P, Schimel J, Schmidt IK, Sommerkorn M,

- Spoelstra J, Tietema A, Wessel WW, Zak DR (2012). Sinks for nitrogen inputs in terrestrial ecosystems: a meta-analysis of ^{15}N tracer field studies. *Ecology*, 93, 1816–1829.
- Tietema A, Emmett BA, Gundersen P, Kjønaas OJ, Koopmans CJ (1998). The fate of ^{15}N -labelled nitrogen deposition in coniferous forest ecosystems. *Forest Ecology and Management*, 101, 19–27.
- Wang A, Zhu WX, Gundersen P, Phillips OL, Chen DX, Fang YT (2018). Fates of atmospheric deposited nitrogen in an Asian tropical primary forest. *Forest Ecology and Management*, 411, 213–222.
- Wang SJ, Luo SS, Yue SC, Shen YF, Li SQ (2016a). Fate of ^{15}N fertilizer under different nitrogen split applications to plastic mulched maize in semiarid farmland. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 105, 129–140.
- Wang XB, Zhou W, Liang GQ, Pei XX, Li KJ (2016b). The fate of ^{15}N -labelled urea in an alkaline calcareous soil under different N application rates and N splits. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 106, 311–324.
- Wang XT, Suo YY, Feng Y, Shohag MJ, Gao J, Zhang QC, Xie S, Lin XY (2011). Recovery of ^{15}N -labeled urea and soil nitrogen dynamics as affected by irrigation management and nitrogen application rate in a double rice cropping system. *Plant and Soil*, 343, 195–208.
- Xi D, Bai R, Zhang LM, Fang YT (2016). Contribution of anammox to nitrogen removal in two temperate forest soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 82, 4602–4612.
- Xu HG, Zhong GR, Lin JJ, Ding YF, Li GH, Wang SH, Liu ZH, Tang S, Ding CQ (2015). Effect of nitrogen management during the panicle stage in rice on the nitrogen utilization of rice and succeeding wheat crops. *European Journal of Agronomy*, 70, 41–47.
- Yang L, Guo S, Chen QW, Chen FJ, Yuan LX, Mi GH (2016). Use of the stable nitrogen isotope to reveal the source-sink regulation of nitrogen uptake and remobilization during grain filling phase in maize. *PLOS ONE*, 11, e0162201. DOI: 10.1371/journal.pone.0162201.
- Yang WH, McDowell AC, Brooks PD, Silver WL (2014). New high precision approach for measuring ^{15}N - N_2 gas fluxes from terrestrial ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, 69, 234–241.
- Yao FY, Zhu B, Du EZ (2012). Use of ^{15}N natural abundance in nitrogen cycling of terrestrial ecosystems. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 36, 346–352. [姚凡云, 朱彪, 杜恩在 (2012). ^{15}N 自然丰度法在陆地生态系统氮循环研究中的应用. 植物生态学报, 36, 346–352.]
- Zhang L, Altabet MA, Wu TX, Hadas O (2007a). Sensitive measurement of NH_4^+ $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ($\delta^{15}\text{N}_{\text{NH}_4^+}$) at natural abundance levels in fresh and saltwaters. *Analytical Chemistry*, 79, 5297–5303.
- Zhang L, Wu Z, Jiang Y, Chen L, Song Y, Wang L, Xie J, Ma X (2010). Fate of applied urea ^{15}N in a soil-maize system as affected by urease inhibitor and nitrification inhibitor. *Plant, Soil & Environment*, 56, 8–15.
- Zhang SS, Fang YT, Xi D (2015). Adaptation of micro-diffusion method for the analysis of ^{15}N natural abundance of ammonium in samples with small volume. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 29, 1297–1306.
- Zhang XD, Amelung W (1996). Gas chromatographic determination of muramic acid, glucosamine, mannosamine, and galactosamine in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 28, 1201–1206.
- Zhang XD, He HB, Amelung W (2007b). A GC/MS method for the assessment of ^{15}N and ^{13}C incorporation into soil amino acid enantiomers. *Soil Biology & Biochemistry*, 39, 2785–2796.
- Zhang ZL, Li N, Xiao J, Zhao CZ, Zou TT, Li DD, Liu Q, Yin HJ (2018). Changes in plant nitrogen acquisition strategies during the restoration of spruce plantations on the eastern Tibetan Plateau, China. *Soil Biology & Biochemistry*, 119, 50–58.
- Zhu FF, Dai LM, Hobbie EA, Koba K, Liu XY, Gurmessa GA, Huang SN, Li SL, Li YH, Han SJ, Fang YT (2019). Uptake patterns of glycine, ammonium, and nitrate differ among four common tree species of northeast China. *Frontiers in Plant Science*, 10, 799. DOI: 10.3389/fpls.2019.00799.
- Zhu GB, Wang SY, Wang Y, Wang CX, Risgaard-Petersen N, Jetten MS, Yin CQ (2011). Anaerobic ammonia oxidation in a fertilized paddy soil. *The ISME Journal*, 5, 1905–1912.
- Zong Z, Wang XP, Tian CG, Chen YJ, Fang YT, Zhang F, Li C, Sun JZ, Li J, Zhang G (2017). First assessment of NO_x sources at a regional background site in North China using isotopic analysis linked with modeling. *Environmental Science & Technology*, 51, 5923–5931.

特邀编委: 温学发 责任编辑: 李 敏